



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**UTILIZAÇÃO DE L-PRF NA CICATRIZAÇÃO DE ALVÉOLOS
DENTÁRIOS PÓS-EXTRAÇÃO**

Trabalho submetido por

BRUNA ELISIÁRIO ALVES

para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

outubro de 2020



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**UTILIZAÇÃO DE L-PRF NA CICATRIZAÇÃO DE ALVÉOLOS
DENTÁRIOS PÓS-EXTRAÇÃO**

Trabalho submetido por

BRUNA ELISIÁRIO ALVES

para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por:

Mestre João Carvalho Gomes

E coorientado por:

Prof. Doutor Paulo Maia

outubro de 2020

Dedicatória

À resiliência.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente ao meu Orientador, Mestre João Carvalho Gomes pela paciência e ajuda. Agradeço também ao coorientador Prof. Doutor Paulo Maia por gentilmente me ter deixado assistir à cirurgia que tornou possível a recolha de imagens que se encontram neste trabalho. Agradeço à incansável e querida Mané, à professora Alzira Cavacas, à professora Ana Forjaz, à Dona D, à Maria Morais, à minha grande amiga Sofia Ribeiro, à Cláudia Antunes, aos meus pais, à tia Helena e tio Carlos pelas noites passadas a estudar em casa deles e a todas as pessoas que fizeram com que este trabalho fosse possível de acontecer.

RESUMO

A evolução da medicina, nomeadamente a medicina dentária, tem vindo a gerar uma necessidade cada vez maior da criação de novos materiais que auxiliem as dificuldades sentidas a nível do controlo pós-operatório, particularmente, a dor e o edema sentido pelos doentes. A principal razão para a utilização de concentrados plaquetários prende-se com a sua ação ao nível da libertação de fatores de crescimento, que é maior, e consequentemente acelerar o processo de cicatrização. Nesse sentido foram sendo aperfeiçoadas as técnicas de colheita de concentrados plaquetários, chegando ao L-PRF (*Leukocyte and Platelet Rich Fibrin*). Com a aplicação das variadas formas do L-PRF na medicina dentária é possível observar um melhor pós-operatório, não só a nível tecidual como também a nível de gestão de dor, edema e sinais pós-operatórios aliado ao custo económico e facilidade de manuseamento.

Com base nessa necessidade, através da revisão da literatura científica, o objetivo do presente trabalho é demonstrar os benefícios da utilização de L-PRF em alvéolos dentários pós-extração, comparando também com outros concentrados plaquetários e verificar as vantagens associadas à sua utilização.

Palavras-chave: L-PRF, pós-extração, alvéolos, dentários.

ABSTRACT

The evolution of medicine as whole, including dentistry, has created a great demand for the creation of new materials that battle the difficulties felt in the post-surgery period, particularly the pain and the swelling felt by the patient. The main reason to use platelet concentrates is the increasing of the released growth factors, that in consequence will help improve the healing process. As a result of that need, new techniques for collection of platelet concentrate have been mastered, resulting in Leukocyte and Platelet Rich Fibrin (L-PRF). With the employment of this reduced difficulty of handling protocol, it is possible to observe a smoother post-surgery signs and symptoms and faster soft tissue healing combined with a reduced economical cost.

Based on this need, through the revision of scientific literature, the goal of this work is to demonstrate and expose the benefits of the usage of L-PRF in dental alveoli following an extraction and also to compare it with other platelet concentrates and verify the benefits associated with its use.

Key-words: L-PRF, post extraction, alveoli, dental.

ÍNDICE GERAL

I.	INTRODUÇÃO.....	15
1.	Concentrados plaquetários: início e classificação	15
2.	CP em suspensões líquidas: PRP e P-PRP	17
3.	Principais Constituintes	18
4.	Vantagens e Desvantagens	18
5.	CP Sólidos	19
6.	PRF e L-PRF	19
II.	Desenvolvimento	21
1.	L-PRF: classificação e componentes	21
2.	Propriedades do L-PRF	25
2.1.	Ação a nível hemostático.....	25
2.2.	Propriedades anti-inflamatórias	25
2.3.	Propriedades angiogénicas	26
2.4.	Regeneração Óssea Guiada (ROG)	26
2.5.	Fatores de crescimento e citosinas.....	27
2.6.	Atividade anti-infecciosa.....	27
3.	Protocolo de Choukron e o L-PRF	27
4.	Utilização de L-PRF vs outros concentrados plaquetários	35
4.1.	L-PRF vs Plasma Rico em Plaquetas (PRP).....	35
4.2.	L-PRF vs fibrina rica em plaquetas injetáveis (i-PRF).....	35
4.3.	L-PRF vs fibrina rica em plaquetas avançada (A-PRF)	36
5.	Processo biológico da cicatrização e regeneração de tecidos.....	36
5.1.	Primeira fase - Coagulação e processo hemostático.....	36
5.2.	Segunda fase- Inflamação.....	37

5.2.1. Fase inflamatória inicial	38
5.2.2. Fase inflamatória tardia	38
5.3. Terceira fase – Proliferação	39
5.4. Quarta fase – Modelação e Remodelação Óssea	40
6. Aplicações de L-PRF em medicina Dentária	41
6.1. Cirurgia Oral.....	41
6.2. Periodontologia.....	46
6.3. Endodontia regenerativa	48
III. CONCLUSÃO.....	51
IV. BIBLIOGRAFIA	53

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Diferenças entre a preparação de concentrados plaquetários.....	17
Figura 2 - Tubo com as distintas frações após a centrifugação da colheita de sangue, onde é visível o coágulo de PRF (a amarelo) entre as camadas.....	22
Figura 3 - Tubo após centrifugação, onde está a ser recolhido o sobrenadante, os eritrócitos encontram-se na parte inferior do tubo e o coágulo de PRF entre estas duas camadas.....	29
Figura 4 - Recolha do coágulo de fibrina do tubo.....	30
Figura 5 - Separação dos eritrócitos existentes.....	30
Figura 6 - Coágulo é colocado na bandeja perfurada do kit do protocolo.....	31
Figura 7 - Colocação da tampa.....	32
Figura 8 - Exsudado obtido através da pressão efetuada pela tampa e que irá ficar localizado no fundo da bandeja perfurada.....	32
Figura 9 - Membranas obtidas com aproximadamente 1 mm de espessura.....	33
Figura 10 - Alteração da forma das membranas ao longo da passagem do tempo.....	33
Figura 11 - Processo de cicatrização do alvéolo dentário.....	41

Figura 12- Diferença de percentagem encontrada sobre componentes do L-PRF, consoante a sua apresentação/forma de utilização.....43

Figura 13- Utilização de membrana de L-PRF na cirurgia de elevação de seio maxilar.....44

Figura 14-Utilização de Membranas de L-PRF como proteção do local intervencionado.....44

Figura 15- Utilização de L-PRF no tratamento de recessões gengivais.....46

Figura 16- Imagem com aumento de 100x, corada com eosina e hematoxilina, correspondendo a parte superior ao coágulo de L-PRF/eritrócitos. Em que, a distribuição das plaquetas (CD61), neutrófilos (CD15), linfócitos T (CD3), linfócitos B (CD20), células estaminais (CD34) e monócitos (CD68) se encontra positiva.....47

Figura 17- Preparação de L-PRF para utilização em endodontia regenerativa.....49

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1- Constituintes de L-PRF, locais onde são produzidos e ações desempenhadas a nível celular.....	22
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

A-PRF – Fibrina rica em plaquetas avançadas

BMP - Proteína morfogenética óssea

CP - Concentrados plaquetários

EGF – Fator de crescimento epidérmico

FC - Fatores de crescimento

HC - Hidróxido de Cálcio

IGF's 1 e 2 - Fator de crescimento de insulina

IL-1 - Interleucina 1

IL-4 - Interleucina 4

IL-6 - Interleucina 6

i-PRF - Fibrina rica em plaquetas injetáveis

JEC - Junção Amelo-Cementária

L-PRF - Leucócitos e plaquetas ricas em fibrina

MTA - Agregato Trióxido Mineral

PDGF - Fator de crescimento derivado de plaquetas

PPP - Plasma Pobre em Plaquetas

PRF - Plaquetas ricas em fibrina

ROG - Regeneração óssea guiada

TGFβ1 – Fator de crescimento transformador beta-1

TNF-α – Fatores de necrose tumoral alfa

VEGF – Fator de crescimento endotelial vascular

WB – Osso primário

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1- Constituintes de L-PRF, locais onde são produzidos e ações desempenhadas a nível celular.....	18
--	----

I. INTRODUÇÃO

1. Concentrados plaquetários: início e classificação

Os concentrados plaquetários autólogos representam uma ferramenta promissora em termos de inovação no campo da medicina regenerativa. Foram inicialmente utilizados no tratamento e prevenção de hemorragias devido a trombocitopénias e são utilizados frequentemente no campo da cirurgia oral para acelerar o processo de cicatrização (Dohan Ehrenfest et al., 2009).

Para conseguirmos desenvolver materiais biocompatíveis regeneradores que interfiram positivamente no processo de cicatrização, temos de conhecer o complexo processo biológico da cicatrização alveolar pós-extração (Amler, M. H., 1999). A cicatrização do alvéolo dentário é bastante complexa pois, em termos de cicatrização temos não só, a lesão da mucosa, mas também, a cicatrização do osso que a rodeia (Amler, M. H., 1999).

Os concentrados plaquetários, (CP), assumem um papel importante nas investigações relacionadas com a medicina dentária canalizadas para a cicatrização e regeneração tecidual (Bielecki, T., & Dohan Ehrenfest, 2012). Atualmente existem várias formas de CP, entre eles, as plaquetas ricas em plasma, (PRP), plaquetas ricas em fibrina, (PRF) e o mais recente, leucócitos e plaquetas ricas em fibrina, (L-PRF) (Hasan, 2015). No final dos anos 80, com base na evidência científica a ROG foi introduzida no campo da medicina dentária apontando diferentes velocidades de cicatrização existente entre os tecidos moles e duros.

As plaquetas, circulam na corrente sanguínea, entre 7 a 10 dias, são fragmentos citoplasmáticos que desempenham na hemóstase primária um papel indispensável e não são constituídas por núcleo, sendo os megacariócitos presentes na medula óssea responsáveis pela sua produção. Em termos de atuação esta é feita através de agregação e adesão, levando à formação de trombina e posteriormente fibrina, criando assim uma superfície de pro-coagulação, (Bain. BJ, 2007). Em 1974, foi descoberto

o potencial regenerativo das plaquetas isoladas do sangue periférico por Ross et al. Essa descoberta levou à conclusão de que, as plaquetas aceleram o processo de cicatrização e são uma fonte de fatores de crescimento (FC) (Ross et al, 1974). Juntamente ao potencial regenerativo e libertação de FC, o seu poder de coagulação deve-se ao facto de conter grânulos alfa. (Nunan, R. 2015). Estes grânulos têm a tarefa de estimular a proliferação celular, angiogénese e remodelação da matriz. (Nunan, R. 2015).

Aquando do aparecimento dos CP, surgiu a necessidade de criar uma classificação que conseguisse distinguir as diferentes características dos CP. Em 2009, Dohan Ehrenfest et al, apresentaram a classificação de 4 principais famílias com base em dois critérios: presença ou ausência de conteúdo celular e a arquitetura da fibrina. Existem então os concentrados plaquetários em suspensões líquidas, (antes de serem ativados), designados por plasma rico em plaquetas (PRP): incluindo o plasma puro rico em plaquetas (P-PRP), e o plasma rico em plaquetas e leucócitos (L-PRP). Por outro lado, temos os CP sólidos, designados fibrina rica em plaquetas (PRF), em que se destaca a sua componente celular rica em fibrina, fazendo parte as plaquetas puras ricas em fibrina (P-PRF) e os leucócitos e plaquetas ricas em fibrina, (L-PRF) (Dohan Ehrenfest et al, 2009), que iremos abordar mais detalhadamente ao longo deste trabalho. Os diferentes CP estão representados na figura 1.

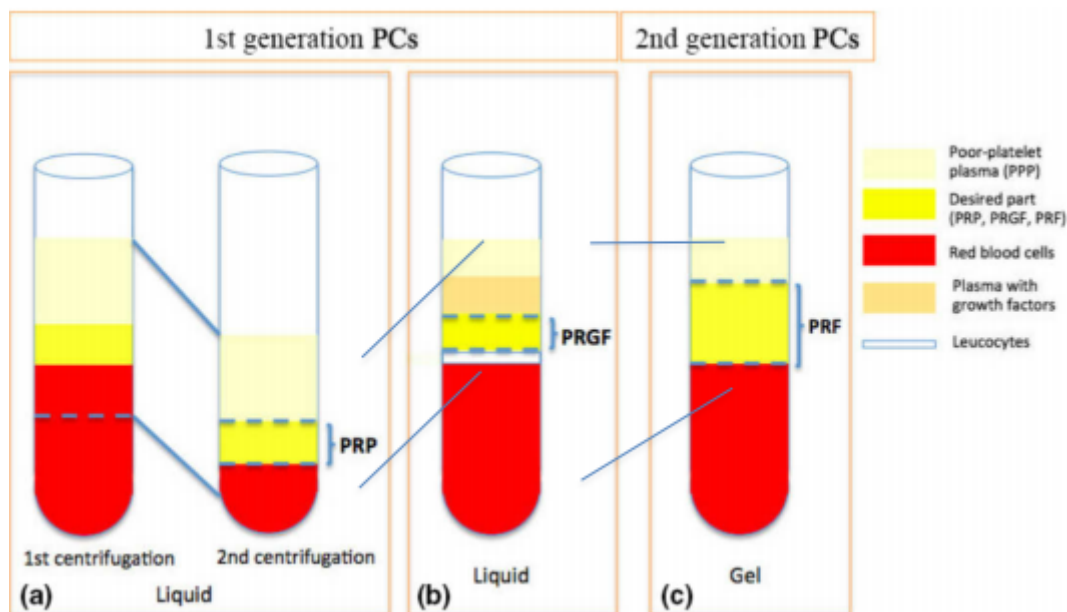


Figura 1- Diferenças entre a preparação de concentrados plaquetários de primeira e segunda geração. (a) Após a primeira centrifugação de PRP, a parte amarela designada *buffy coat*, o plasma pobre em plaquetas e alguns eritrócitos, são cuidadosamente recolhidos através de uma pipeta e são novamente centrifugados para se obter o final da recolha de (PRP). (b) Após a centrifugação, o sangue encontra-se dividido em cinco frações para ser recolhido o (PRGF), as partes que não serão utilizadas são descartadas e a parte mais concentrada em fatores de crescimento é recolhida. (c) Após a centrifugação, é obtido um coágulo de fibrina que não necessita de ser novamente centrifugado, estando pronto a utilizar (L-PRF) (Adaptado de Miron, Richard J., 2017).

2. CP em suspensões líquidas: PRP e P-PRP

O PRP é fruto da centrifugação de sangue do próprio doente, o PRP e o P-PRP, têm como característica a sua forma líquida, quando estão em contato, com um ativador, por exemplo, trombina bovina, adquirem a forma de gel, transformando-se assim, numa substância mais firme (Kawase, T. 2015). Como já referido anteriormente liberta também FC, a grande diferença neste CP é que não contém leucócitos e a libertação de FC é mais limitada (Dohan Ehrenfest et al, 2009).

3. Principais Constituintes

Numericamente contém mais fatores de crescimento, promovendo assim, uma melhor reparação tecidual, modulação da inflamação, permitindo uma eficaz hemostase e acelerando positivamente o processo de regeneração dos tecidos moles e duros, (Dohan Ehrenfest, 2012). Como já referido anteriormente liberta também FC.

A grande diferença no PRP é o facto de não conter leucócitos e a libertação de FC ser mais limitada (Dohan Ehrenfest et al, 2009). Este fragmento apresenta uma concentração plaquetária aumentada em relação aos valores basais do sangue periférico, e por isso, conseguem-se obter valores significativamente superiores em relação ao número de fatores de crescimento existentes no sangue periférico.

A diferença para o P-PRP é a rede de fibrina de baixa densidade comparativamente só ao PRP (Kawase, T. 2015).

4. Vantagens e Desvantagens

Tem como vantagem ser um material autólogo, reduzindo a possibilidade de rejeição por parte do sistema imunitário e a libertação dos FC. A sua utilização acarreta também algumas desvantagens, como por exemplo, a sua limitação no manuseamento diário em consultório, visto acompanhar alguns gastos económicos e a fato de ser necessário utilizar um ativador (cloreto de cálcio ou trombina bovina), fazendo com que algumas vezes se obtenha a sua forma em gel demasiado cedo, não conseguindo por isso posteriormente ser manuseado facilmente (Davis, V.L, 2014). Outra desvantagem, prende-se com a possibilidade de serem desenvolvidos anticorpos, de antitrombina, de antifatores V e XI devido à utilização da trombina, usualmente de origem bovina (Dohan, D.M, 2006).

5. CP Sólidos

De forma a diminuir a taxa de ocorrência deste tipo de desvantagens do PRP, foi sentida a necessidade de desenvolver CP mais simples e eficazes, que fossem também capazes de interferir no processo de inflamação e potenciar a velocidade de cicatrização, surgindo assim em 2001 através de Choukron, o L-PRF, fibrina rica em leucócitos e plaquetas (Choukron, J., 2001).

6. PRF e L-PRF

Existem vários sistemas de centrifugação, cada um possuindo características próprias que fazem com que sejam consideravelmente diferentes entre si, seja a nível de protocolo, seja a nível de instrumentos utilizados (Dohan Ehrenfest, 2018), que iremos abordar detalhadamente no capítulo seguinte.

Choukroun et al, desenvolveu em 2001 um protocolo de produção de PRF. Atualmente, é descrito como o mais simples e mais económico dos protocolos de colheita de CP (Choukroun J., 2006).

Este trabalho tem como objetivo demonstrar os benefícios da utilização de L-PRF comparativamente a outros concentrados plaquetários e a sua ação a nível de alvéolos dentários pós-extração.

Foram feitas pesquisas através da Pubmed, Cochrane e foram utilizadas palavras como, L-PRF, cirurgia oral, concentrados plaquetários e regeneração tecidual. Os artigos foram selecionados com preferência em inglês e com base na sua relevância na medicina dentária baseada na evidência, deu-se preferência às revisões sistemáticas e artigos com menos de 10 anos.

II. DESENVOLVIMENTO

1. L-PRF: classificação e componentes

A grande diferença entre os seus antecessores e o L-PRF é o não envolvimento de quaisquer anticoagulantes ou ativadores na sua produção, sendo por isso classificado como CP de segunda geração. Outra grande diferença encontra-se na consistência que apresenta: todos os outros CP têm uma forma semelhante à cola de fibrina, o L-PRF apresenta uma consistência sólida e sofre remodelação lentamente (Shah, R. 2017). Tal como todos os outros CP, é recolhido o sangue por venopunção e é posteriormente centrifugado a baixa velocidade. Obtendo-se três frações distintas: a fração mais inferior, que é composta por eritrócitos, a fração seguinte (coágulo de L-PRF) e a fração superior, que é composta por plasma acelular (PPP) que se pode verificar na figura 2. O coágulo que é formado entre as camadas e que corresponde ao L-PRF consiste numa forte matriz de fibrina, em que, é caracterizada por uma estrutura tridimensional que hospeda a maior parte das plaquetas e leucócitos do sangue recolhido (Bielecki, T. 2012). Após a colheita de sangue, como não existe envolvimento de anticoagulantes, são imediatamente desencadeadas as ativações a nível plaquetário e é iniciada a polimerização da fibrina. A nível plaquetário esta ativação conduz a uma considerável incorporação de FC, que são libertados pelos leucócitos e plaquetas na matriz de fibrina (Dohan Ehrenfest, 2018). Na tabela 1 estão representados os fatores presentes no L-PRF e as suas ações.



Figura 2- Tubo com as distintas frações após a centrifugação da colheita de sangue, onde é visível o coágulo de L-PRF (a amarelo) entre as camadas.

Tabela 1- Constituintes de L-PRF, locais onde são produzidos e ações desempenhadas a nível celular. Adaptado de Martinez, C.E. (2015).

FATOR	PRODUTOR	AÇÃO
<ul style="list-style-type: none"> IL-1 	<ul style="list-style-type: none"> Produzida por macrófagos neutrófilos ativados, células de <i>Langerhans</i> e queratinócitos 	<ul style="list-style-type: none"> Mediador no controlo da inflamação Estimulador dos linfócitos T-helper.
<ul style="list-style-type: none"> IL-4 	<ul style="list-style-type: none"> Produzida pelos linfócitos Th2 e CD4+ 	<ul style="list-style-type: none"> Inibe a cascata de reações pró-inflamatórias, neutralizando desta forma a sua amplificação
<ul style="list-style-type: none"> IL-6 	<ul style="list-style-type: none"> Produzidos por monócitos, fibroblastos, células endoteliais e por 	<ul style="list-style-type: none"> Fator de diferenciação para os linfócitos B – estimula de forma exacerbada a atividade humoral

	macrófagos, linfócitos T e B.	<ul style="list-style-type: none"> • Ativador dos linfócitos T • Estimula a secreção de anticorpos • Apoia a reação em cadeia que leva à amplificação da reação de inflamação, destruição e remodelação de tecidos.
• TNF-A	<ul style="list-style-type: none"> • Primeira citocina a ser libertada por monócitos e macrófagos, neutrófilos e linfócitos B, como resposta à agressão bacteriana e na presença de endotoxinas bacterianas 	<ul style="list-style-type: none"> • Ativação de monócitos • Estimula a capacidade remodeladora dos fibroblastos – inicia a remodelação de tecidos • Aumenta a citotoxicidade e a fagocitose de neutrófilos • Modelador de expressão da IL-1 e IL-6 • Segregada por macrófagos ativados e trombócitos.
• VEGF	<ul style="list-style-type: none"> • FC mais potente que leva à iniciação da angiogénese 	<ul style="list-style-type: none"> • Poder cicatricial • É o mais eficaz promotor de crescimento de células endoteliais vasculares • Ação direta sobre a proliferação, migração, especialização ou mesmo sobrevivência das células endoteliais.
• TGF-B1	<ul style="list-style-type: none"> • Linfócitos B 	<ul style="list-style-type: none"> • Síntese massiva de colagénio/matriz extracelular e inibição da sua degradação • Síntese de fibronectina • Supressão da proliferação celular; imunossupressão • Importante na cicatrização, angiogénese, re-epitelização e regeneração de tecido

		<p>conjuntivo. Crucial durante a formação de osso</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ativação efetuada por alterações do pH ou de agentes proteolíticos e pela trombospondina
<ul style="list-style-type: none"> • PDGF 	<ul style="list-style-type: none"> • As plaquetas são a principal fonte de PDGF 	<ul style="list-style-type: none"> • Regula a migração, proliferação e sobrevivência da linhagem celular mesenquimal • Promove formação de tecido de granulação • Promove epitelização, angiogénese e replicação celular • Promove a formação de colagénio • Possui recetores a (estimulam a atividade mitótica) e b (estimulam a quimiotaxia)
<ul style="list-style-type: none"> • IGF'S 1 E 2 	<ul style="list-style-type: none"> • Mediador de multiplicação celular e de apoptose 	<ul style="list-style-type: none"> • Exerce efeito quimiotático nos osteoblastos humanos • Crescimento/regeneração muscular • Síntese proteica • Osteogénese
	<ul style="list-style-type: none"> • Libertado por FC 	<ul style="list-style-type: none"> • Induzem fatores que atuam nas células mesenquimais imaturas, incluindo os osteoblastos resultando na osteogénese • Induz a regeneração óssea <i>in vivo</i>
<ul style="list-style-type: none"> • BMPS 		

2. Propriedades do L-PRF

2.1. Ação a nível hemostático

Após a venopunção existe uma grande ativação plaquetária. Esta ativação é potenciada pelo contato direto das partículas existentes com as paredes do vidro do tubo de colheita sanguínea. Posteriormente são iniciados os processos de agregação e desgranulação (Choukroun, J. 2006).

A trombina existente no tubo fragmenta o fibrinogénio em monómeros de fibrina, estes monómeros, fazem uma ligação entre eles e formam uma matriz de fibrina tridimensional, conferindo ao conteúdo do tubo um aspeto gelatinoso (Dohan Ehrenfest, D. M. et al, 2018). A característica gelatinosa no final da centrifugação passa a uma característica rígida, podendo servir mecanicamente como um tampão, ajudando no controle da hemorragia, orientado a migração celular e protegendo a ferida cirúrgica dos microrganismos da cavidade oral (Dohan Ehrenfest, D. M. et al, 2018).

2.2. Propriedades anti-inflamatórias

Através da quimiotaxia, os CP têm a capacidade de conseguir regular as reações inflamatórias e estimular o sistema imunitário.

Como reação aos acontecimentos hemostáticos através da centrifugação, os leucócitos são ativados e como consequência existe libertação de citosinas pró e anti-inflamatórias, nomeadamente, a IL-4 e IL-6 (referidas anteriormente na tabela 1). Estas citosinas são conhecidas pela inibição da cascata de reações pró-inflamatórias, neutralizando e acabando por estimular a secreção de anticorpos (Dohan Ehrenfest, D. M. et al, 2009).

2.3. Propriedades angiogénicas

Através da ação de citosinas e glicoproteínas presentes na circulação sanguínea, as células do endotélio colonizam a matriz de fibrina, levando a uma libertação de fatores angiogénicos como o VEGF e TNF- α estimulando a neoangiogénese, induzindo assim a formação de novos vasos (Pinto, N.R., et al 2014).

Os leucócitos presentes no L-PRF além do seu papel anti-infecioso, também podem ajudar na produção de VEGF e consequente promoção da angiogénese, uma vez que, o concentrado plaquetário colhido no sangue contém quantidades idênticas de estimuladores e inibidores da angiogénese (Pinto, N.R., et al 2014).

2.4. Regeneração Óssea Guiada (ROG)

Originalmente eram usados materiais que impediam que as células do epitélio que tinham um crescimento rápido penetrassem nos defeitos ósseos, desta forma, sentiu-se necessidade de incorporar a regeneração óssea guiada (Tsiridis, E., 2007). Ao longo da evolução desse conceito, foram sendo adicionados à ROG novos parâmetros de exigência, alguns deles, passando pela manutenção do espaço, capacidade de formação de um coágulo, estabilidade mecânica, potencial de infiltração celular, biocompatibilidade e poder de reabsorção (Yaprak, E.2018).

O que se averiguou em relação ao L-PRF, apesar dos mecanismos de ação inerentes a esta tarefa não serem ainda completamente compreendidos, é que, este atua no aumento da proliferação e criação de osteoblastos (Bielecki, T., 2012). O que se conseguiu verificar foi que é espectável que exista uma maior eficácia em termos de melhor regeneração óssea devido à existência de fatores como PDGFs e TGF-B, que estão diretamente implicados no mecanismo osteoblástico e consequente regeneração de tecidos, tanto moles como duros (Barrientos, S., 2008).

Alguns estudos de elevação de seio maxilar com colocação simultânea de implante, chegaram à conclusão que poderia existir uma promoção da regeneração

óssea natural pelo facto de ter sido produzido tecido denso semelhante a osso no local onde foi colocada a membrana de L-PRF, no entanto, carecemos de mais estudos para comprovar a sua viabilidade (Castro, A.B., 2017).

2.5. Fatores de crescimento e citosinas

As células presas na matriz podem ser responsáveis pela produção de FC e citosinas. Foi verificado que a quantidade total do fator de crescimento libertado pela membrana, era bastante maior que a quantidade total recolhida logo após a sua preparação (Dar, M. M., 2018). Através da tabela 1, já referenciada anteriormente, podem ser verificados os FC libertados e citosinas presentes nas membranas de L-PRF.

2.6. Atividade anti-infeciosa

As aptidões de defesa contra corpos estranhos não se verificam apenas no efeito direto através da interferência a nível de infeções, mas também na sua capacidade de facilitar o acesso de células do sistema imunitário ao local afetado pela lesão (neovascularização). Isto é possível devido à presença de leucócitos presentes no L-PRF (Jeyaraj, P. E., 2018). Grande parte dos leucócitos retirados do sangue encontram-se retidos no L-PRF devido à força existente na centrifugação, estando localizados na transição entre o coágulo de fibrina e os eritrócitos existente no tubo resultante da colheita sanguínea (Jeyaraj, P. E., 2018).

3. Protocolo de Choukron e o L-PRF

Existem vários sistemas de centrifugação e várias marcas de centrifugadoras, existindo diferenças nos componentes das centrifugadoras como por exemplo a inclinação do tubo no cilindro, o eixo central de rotação, a velocidade de arranque, entre outros, resultando num produto final diferente conforme cada sistema. Macroscopicamente, foi observado que independentemente do sistema, o resultado

final é um coágulo de cor branca e uma membrana bastante semelhante, podendo diferir em termos de dimensões e, algumas até, diferir na sua inicial consistência (Quirynen, M. et al, 2018).

O protocolo de Choukron et al, rege-se pela venopunção em tubos de plástico através de um sistema de vácuo, em que, os tubos são internamente revestidos por sílica. Em alternativa, podem ser utilizados tubos de vidro de 10 ml, no entanto, não podem conter qualquer acrescento de anticoagulantes (Choukroun, J., et al., 2006). O tubo é imediatamente centrifugado após a recolha do sangue a uma velocidade de 2700 rpm e com uma força de centrifugação de 708g, durante 12 minutos (Choukroun, J., et al., 2006). Devido à não existência de fatores anticoagulantes, o contato das plaquetas com as paredes do tubo vai levar à sua ativação, desencadeando também a ativação da via intrínseca da cascata de coagulação e consequente formação do coágulo de fibrina natural, resultando em três camadas distintas observáveis no tubo: Plasma pobre em plaquetas como sobrenadante (parte superior), o coágulo de PRF no meio, onde se encontram a maior parte das plaquetas e leucócitos, e por fim eritrócitos depositados na parte inferior do tubo que se podem verificar na figura 3 (Choukroun, J., et al., 2006).

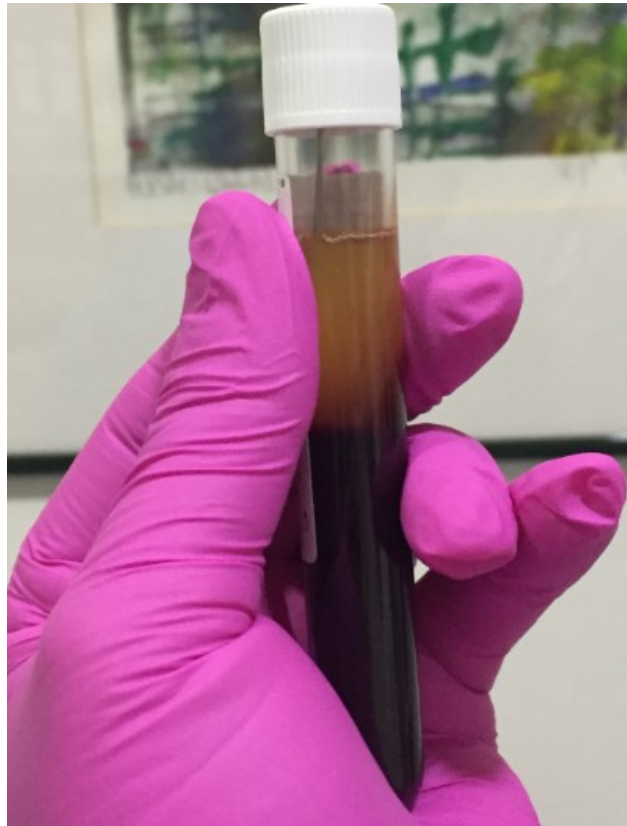


Figura 3- Tubo após centrifugação, onde é observado o sobrenadante (em cima), os eritrócitos na parte inferior do tubo e o coágulo de PRF entre estas duas camadas.

Posteriormente é feita a recolha do coágulo do tubo (figura 4), sendo cuidadosamente feita a separação dos eritrócitos existentes (figura 5).

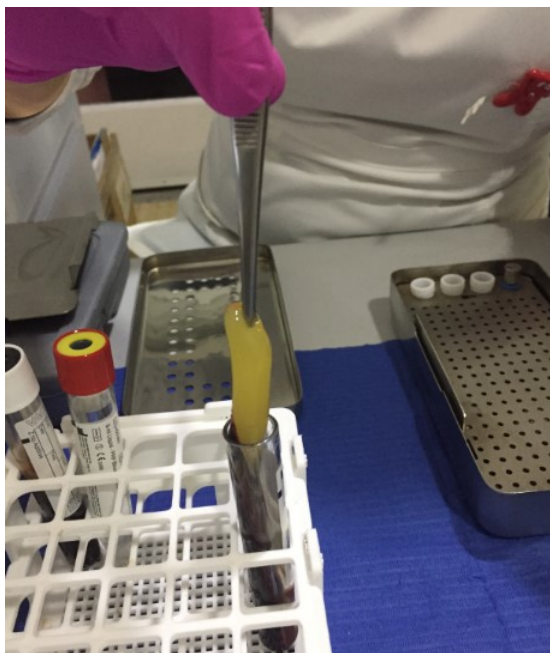


Figura 4- Recolha do coágulo de fibrina do tubo.

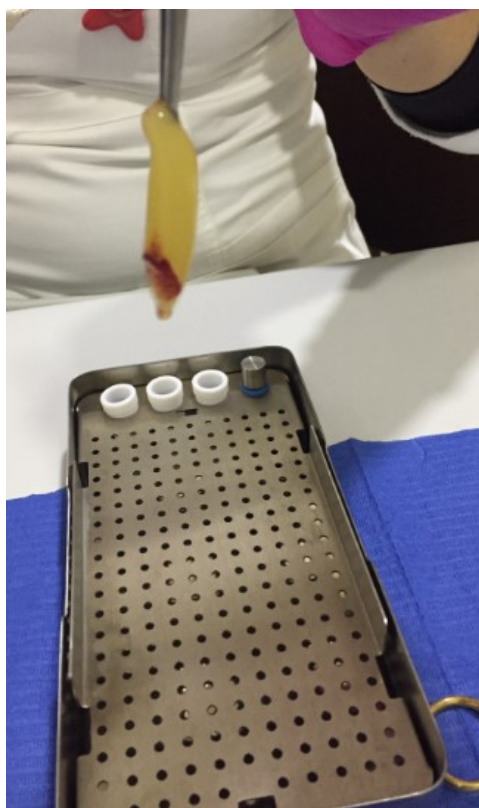


Figura 5- Separação dos eritrócitos existentes.

O coágulo é disposto numa bandeja perfurada que faz parte do kit do protocolo, (figura 6) e colocada uma tampa para que haja uma ligeira compressão através da força gravitacional. Assim, conseguimos que seja feita a extração do exsudado dos coágulos, que irá ficar disposto no fundo da bandeja (figura 7 e 8). No término deste processo iremos obter membranas com aproximadamente, 1 mm de espessura, (figura 9), (Choukroun, J., et al., 2006).

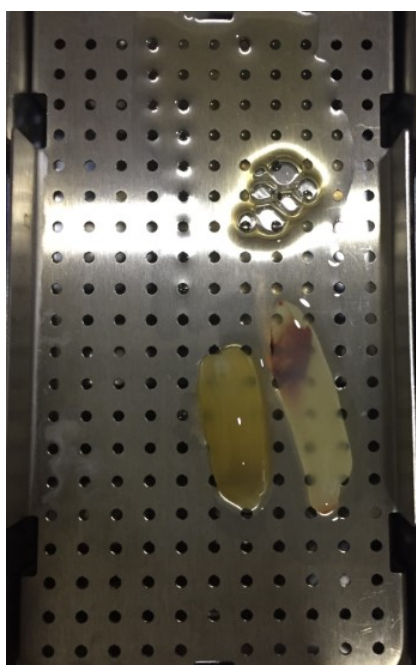


Figura 6- Coágulo colocado na bandeja perfurada do kit do protocolo.



Figura 7- Colocação da tampa.

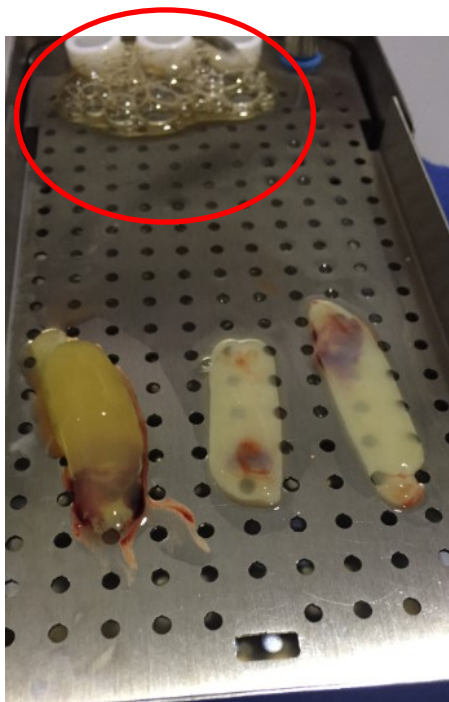


Figura 8- Exsudado obtido através da pressão efetuada pela tampa e que irá ficar localizado no fundo da bandeja perfurada.

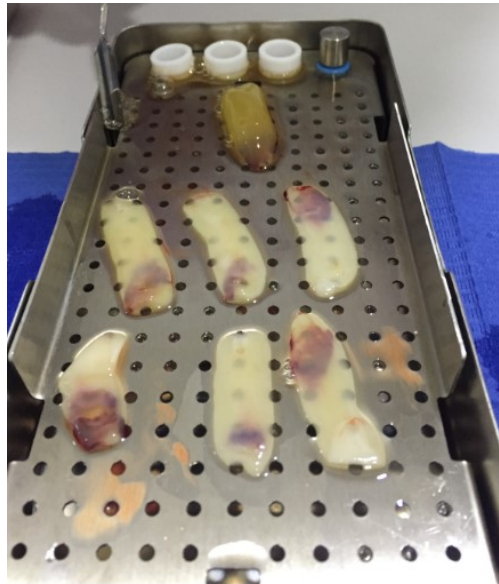


Figura 9- Membranas obtidas com aproximadamente 1 mm de espessura.

Aproximadamente 3 minutos depois deste procedimento, obtemos as membranas prontamente a serem utilizadas, para obtenção do expoente máximo dos seus benefícios. Devem ser utilizadas num período de tempo não excedendo as 3 horas após a recolha (figura 10).

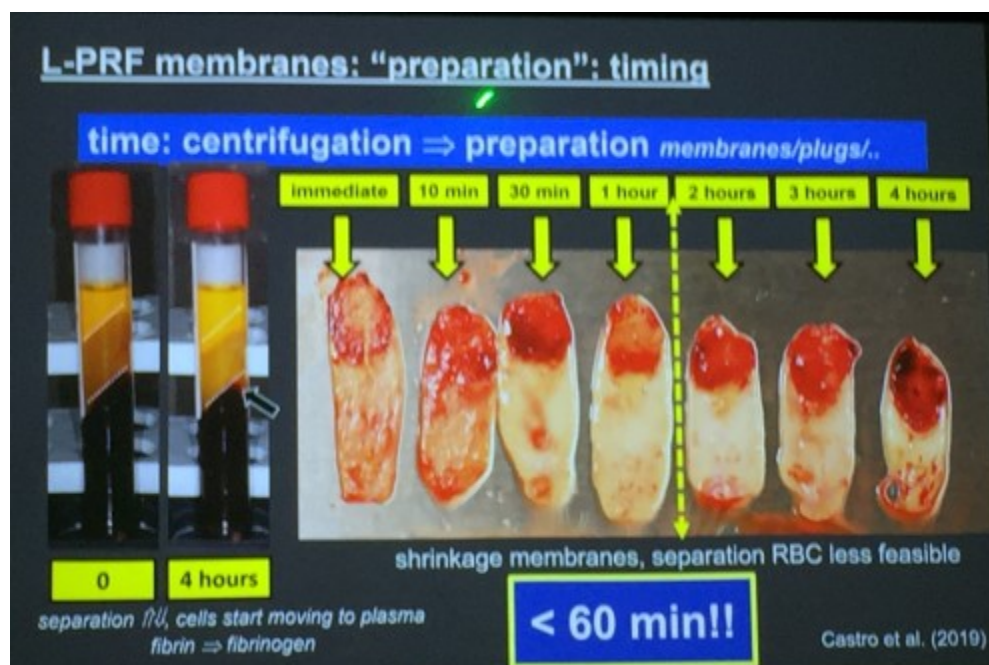


Figura 10- Alteração da forma das membranas ao longo da passagem do tempo. Imagem gentilmente cedida por Quirynen, M.

Devido à constituição das membranas ser por fibrilhas dispostas paralelamente umas às outras, é originada uma malha muito densa e dificilmente reabsorvida pelos tecidos, algo que deve ser considerado aquando o seu manuseamento (Dohan Ehrenfest, et al., 2012).

Para evitar desidratação das membranas, estas devem ser irrigadas com o exsudado proveniente da pressão aplicada pela tampa do kit (descrito anteriormente na figura 7). A composição do exsudado é rica em glicoprotínas, como por exemplo, vitronectinas, trombospondinas e fibronectinas que são ideais para hidratar os componentes do enxerto. (A Zumstein, M., 2012). Os fatores de crescimento, funcionam fisiologicamente a um ph ideal e por isso as glicoproteínas conseguem penetrar no enxerto ajudando no seu manuseamento (A Zumstein, M., 2012).

O L-PRF, tem incorporados 50 % dos leucócitos do coágulo inicial e 97% das plaquetas. Como é uma membrana, protege o local de possíveis agressões, possui características antibacterianas e atua a nível da hemorragia. Por todos estes benefícios referidos, actualmente o L-PRF é considerado como um dos CP com maior competência na Medicina Dentária, nomeadamente, na cirurgia oral, Periodontologia, Endodontia... (Mourão, C. et al., 2020)

Uma desvantagem apontada ao L-PRF era o tempo de aplicação, ou seja, o tempo existente entre o obter as membranas e o conseguir aplicá-las cirurgicamente sem que existisse polimerização. Entrando em contato com as paredes do tubo iniciava-se a coagulação, no entanto, introduziu-se revestimento de sílica nas paredes do tubo aumentando assim o tempo de trabalho e consequente manuseamento (Choukroun, J., et al., 2006).

Em relação ao número de membranas que se conseguem obter, o número é limitado visto que são feitas através de colheita de sangue do próprio doente (Choukroun, J., et al., 2006). Conseguem obter-se ao mesmo tempo, 8 membranas, o êxito está dependente do tempo decorrido entre a colheita e a centrifugação (Choukroun, J., et al., 2006).

Se existir alguma modificação ao protocolo, ou seja, se este não for respeitado, a consequência será a formação desadequada do coágulo de PRF. Existirá uma alteração no número de plaquetas e leucócitos ficando assim comprometida a sua função (Shah, R., et al., 2017). Consequentemente, a regulação do processo inflamatório é alterada modificando assim as principais funções da membrana de fibrina (Shah, R., et al., 2017).

4. Utilização de L-PRF vs outros concentrados plaquetários

4.1. L-PRF vs Plasma Rico em Plaquetas (PRP)

Uma das desvantagens facilmente notadas em relação ao PRP é o fato de requerer coagulantes na sua preparação. Outra desvantagem é a pouca previsibilidade da qualidade do produto resultante, isto deve-se ao fato de este passar por várias etapas de preparação e por essa razão torna-se difícil prever o seu resultado final (Bielecki, T., & M Dohan Ehrenfest, D., 2012).

O L-PRF comparativamente ao PRP tem como principais vantagens o facto de auxiliar o sistema imunitário e libertar fatores de crescimento que se podem alongar até uma semana. No PRP esta libertação dá-se apenas durante a primeira hora após a sua colocação (Ehrenfest, D. M. D., et al., 2014).

4.2. L-PRF vs fibrina rica em plaquetas injetáveis (i-PRF)

Em termos de CP, esta é a sua mais recente versão, existindo ainda poucos estudos realizados a nível da i-PRF. No entanto, os estudos já realizados, indicam que os FC libertados parecem ser mais amplos, o que possivelmente poderia indicar um aumento na migração dos fibroblastos e consequente possível aumento da síntese de colagénio, parecendo ainda conter um alto índice de leucócitos o que poderia torná-lo mais viável na estimulação da regeneração óssea, carecendo no entanto de mais estudos para conseguir provar a sua ação (Miron, R.J., 2017).

4.3. L-PRF vs fibrina rica em plaquetas avançada (A-PRF)

A comparação existente entre estes dois CPs deve-se ao facto do A-PRF ser apresentado como uma evolução do L-PRF, justificado por existir revascularização da zona mais rapidamente. Em termos da cicatrização também existe uma ação mais rápida (Kobayashi et al., 2016), no entanto, um estudo mais recente verificou que existia uma quantidade maior de fatores de crescimento a serem libertados aquando da utilização de L-PRF, em vez de A-PRF. O L-PRF manteve-se estável durante 7 dias enquanto que as membranas de A-PRF entravam em dissolução ao fim de 3 (Dohan et al., 2017). Relativamente à dimensão do coágulo, o coágulo de A-PRF era menor e apresentava maior fragilidade e assimetria quando comparado com o de L-PRF ((Dohan et al., 2017).

5. Processo biológico da cicatrização e regeneração de tecidos

Na literatura a cicatrização dos tecidos moles e duros encontra-se com uma boa descrição. No entanto, não existiam muitos estudos que traduzissem o processo cicatricial de alvéolos pós-extração como um único processo e os estudos que foram realizados referiam-se a animais (Michel, K., et al 2013). Em 1999, foram realizados estudos in vivo em humanos concluindo que, os processos de cicatrização são iguais, mas, cronologicamente existem divergências (Amler, M. H. 1999), ainda assim, conseguiram-se distinguir 3 fases de cicatrização e uma de remodelação óssea, processos estes que acontecem nos alvéolos dentários pós-extração.

5.1. Primeira fase - Coagulação e processo hemostático

Quando é realizada uma exodontia, existe uma lesão a nível vascular e um consequente extravasamento de sangue para dentro do alvéolo dentário. Essa lesão microvascular, como resposta, vai induzir uma vasoconstricção durante alguns minutos até que a acidose (diminuição do pH sanguíneo para menos de 7.35) e hipóxia (falta

de oxigénio ou diminuição) vão novamente iniciar a hemorragia através de um relaxamento passivo (Araújo, M. G.,2015). Ao mesmo tempo que o sangue entra no local lesado, vai existir uma afluência de plaquetas que vão entrar em contato com o colagénio e outros componentes expostos na matriz celular, favorecendo assim a libertação de fatores intervenientes na coagulação e consequentemente agregação plaquetária. Formando assim, um coágulo de sangue que vai preencher o alvéolo, funcionando como um tampão mecânico e servindo também de guia para as células que vão atuar nas fases seguintes (Araújo, M. G.,2015). Ainda nesta fase, é iniciada a angiogénese (desenvolvimento de novos vasos sanguíneos). O ambiente de hipoxia existente faz com que haja uma libertação de moléculas que induzem a proliferação e crescimento de células do endotélio, sendo o fator de crescimento de fibroblastos (FGF), e o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) os mais importantes nesta migração (Araújo, M. G.,2015). Momentos após a lesão, são estimulados e por isso existe multiplicação de fibroblastos e miofibroblastos do tecido que rodeia a lesão, embora os mesmos apenas sejam visíveis no local da ferida após alguns dias (Araújo, M. G.,2015).

Além de terem um papel imprescindível na cicatrização das feridas, as plaquetas atuam também na coagulação e são responsáveis por produzir fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), crescimento transformador beta (TGF- β) , fator de crescimento epidérmico (EGF) e fatores muito semelhantes à insulina (IGF), fundamentais na ativação de neutrófilos e mais tarde macrófagos, células endoteliais e fibroblastos (Barrientos, S., et al, 2008).

5.2. Segunda fase- Inflamação

Esta segunda fase consiste em criar uma barreira a nível do sistema imunitário que vai agir contra organismos invasores, existindo dois processos distintos caracterizados por: fase inflamatória inicial e fase inflamatória tardia.

5.2.1. Fase inflamatória inicial

A fase inflamatória inicial começa ainda na fase tardia da coagulação. Consiste na secreção de componentes como TGF-B, C3a e C5a (componentes do sistema de complemento) e péptidos de formilmetionina que são produzidos por bactérias e produtos derivados das plaquetas e que têm como função atrair os neutrófilos. Quando estes chegam ao local da lesão começam a fagocitar o tecido danificado e também as bactérias presentes, ajudando assim na cicatrização, visto que a presença de bactérias patogénicas em tecidos lesados faz com que estes não cicatrizem. (Barrientos, S., et al, 2008). Para além destas funções, os neutrófilos também contêm uma grande quantidade de mediadores solúveis, como por exemplo polipéptidos antimicrobianos e proteases, que atuam como mediadores na reparação de tecido do epitélio (Barrientos, S., et al, 2008). Quando os neutrófilos terminam a sua atividade, os restos celulares e os corpos apoptóticos destas células são eliminados através da fagocitose por macrófagos, iniciando assim a próxima fase inflamatória, a tardia. (Barrientos, S., et al, 2008).

5.2.2. Fase inflamatória tardia

É caracterizada pela presença de monócitos sanguíneos, que são levados por vários componentes, (PDGF, TGF-B, fatores de coagulação, elastina, leucotrienos, entre outros) e que os direcionam para o local da lesão, sofrendo uma transformação que ocorre fenotipicamente e que diferencia estes monócitos em macrófagos teciduais. Os macrófagos teciduais têm como objetivo produzir FC que interferem nos tecidos (TGF-B, TGF-A, collagenase...) e consequentemente levam à ativação dos queratinócitos, fibroblastos e células do endotélio (Leoni, G., et al, 2015).

Por último, os linfócitos são as células que se apresentam no final deste processo e são atraídos pela Interleucina-1 (IL-1), pelos componentes do complemento e pelos produtos degradados pela IgG (Imunoglobulina G), (Leoni, G., et al, 2015).

5.3. Terceira fase – Proliferação

Esta é a fase em que existe a formação do tecido de granulação (TC), deposição de matriz extracelular provisória e formação de *woven bone* (WB), um tipo de osso provisório e sem qualquer função de suporte de peso, sendo substituído mais tarde por osso maduro). Durante esta fase continua a existir proliferação dos fibroblastos (Araújo, M. G., et al., 2015).

Inúmeras áreas do coágulo sanguíneo são substituídas por tecido de granulação proveniente da porção marginal do alvéolo, sendo constituídos por células inflamatórias, botões vasculares e fibroblastos imaturos (Araújo, M. G., et al, 2015).

Na primeira semana após a exodontia o coágulo sanguíneo que cobria o alvéolo dentário é totalmente remodelado e alterado por tecido de granulação. Nesta fase, também existe produção das proteínas da matriz pelos fibroblastos das quais fazem parte o ácido hialurônico, a fibronectina, os proteoglicanos e as moléculas de pró-colagénio que irão formar a matriz extracelular provisória (Araújo, M. G., et al, 2015).

As células residuais do coágulo sanguíneo, o tecido de granulação e a matriz extracelular provisória vão substituir o ligamento periodontal. Esta formação é feita em direção ao centro da depressão existente no alvéolo e à medida que vai sendo formada, existe penetração de variados vasos e osteoblastos (Araújo, M. G., et al, 2015).

Cerca de uma semana após a lesão existe deposição de tecido mineralizado em redor dos vasos sanguíneos, as suas projeções vão envolver na totalidade o vaso e originar o *sistema de havers* (têm como função, nutrir, mineralizar e enervar o osso). A formação de WB vai limitar a formação da matriz extracelular provisória mantendo-a, desta vez, no centro do alvéolo dentário (Araújo, M. G., et al, 2015). A deposição de material mineral no alvéolo apresenta modificações dependendo da região óssea, existindo por isso uma diminuição de material mineral de lingual para vestibular (Farina, R., & Trombelli, L., 2011).

Em relação à região marginal do alvéolo esta é lentamente coberta por tecido conjuntivo fibroso bem organizado e não coberto na totalidade por células do epitélio. Existe também uma alteração ao nível dos fibroblastos que são alterados para miofibroblastos e que são responsáveis pela aproximação aos bordos da lesão, visto que esta começa na posição central do alvéolo e só mais tarde é direcionada para os bordos (Farina, R., & Trombelli, L., 2011).

5.4. Quarta fase – Modelação e Remodelação Óssea

A modelação óssea é a última fase do processo de cicatrização alveolar. Define-se como uma alteração quantitativa devido à sua reabsorção óssea. Esta reabsorção óssea é um processo relativamente rápido visto que, dois terços ocorrem nos primeiros 3 meses de cicatrização, e leva a uma modificação dimensional (Araújo, M. G., et al, 2015).

Já a remodelação óssea é caracterizada por uma mudança qualitativa, havendo substituição de osso provisório (WB) por osso maduro. Esta remodelação de tecido duro é lenta, variando de indivíduo para indivíduo (Farina, R., & Trombelli, L., 2011).

Poucas semanas após a extração dentária os osteoclastos são encontrados na crista das paredes vestibular e lingual, tanto nas porções externas como internas do alvéolo dentário. O osso em lingual é geralmente mais largo que em vestibular, na modelação óssea existe uma maior perda óssea a nível vertical na porção vestibular do que em lingual (Araújo, M. G., et al, 2015).

O osso provisório que se encontra nas zonas apicais do alvéolo dentário é então modificado por osso lamelar e medula óssea. Simultaneamente, existe uma inserção das fibras de colagénio da mucosa no novo osso. Nessa zona é formada uma estrutura semelhante ao periosteio. (Araújo, M. G., et al, 2015). Esta é a fase em que existe um alto conteúdo de medula óssea e trabéculas de osso lamelar bem organizadas em toda a região apical do alvéolo ao osso marginal (Evian, C. I et al., 1982).

Finalmente, entre o 24º e o 35º dia prevê-se a fusão epitelial da lesão (Hansson, S., & Halldin, A. (2012)), o processo de cicatrização do alvéolo dentário encontra-se sucinto na figura 11.

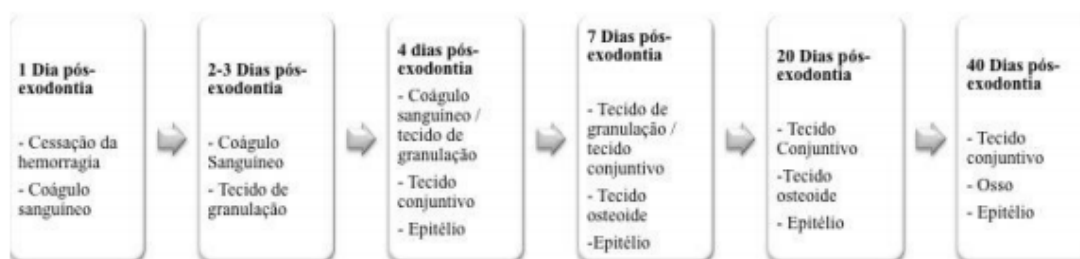


Figura 11- Processo de cicatrização do alvéolo dentário. Adaptado. (Wong, 1993)

6. Aplicações de L-PRF em medicina Dentária

6.1. Cirurgia Oral

Com a criação do protocolo de Choukroun et al, o L-PRF começou a ser vastamente utilizado em vários campos da medicina dentária, sendo uma dessas áreas a cirurgia oral (Dar, M. et., al, 2018).

Uma das situações em que o L-PRF é aplicado é no preenchimento do alvéolo dentário. Funciona não só, como um material de preenchimento ajudando na prevenção da reabsorção óssea, mas também, auxilia ao não colapso da crista marginal o que muitas vezes acontece durante uma exodontia mais complicada, (Dar, M. et., al, 2018).

O L-PRF em cirurgia oral atua a nível da neovascularização, facilita o processo de cicatrização e ajuda na redução de possíveis sintomas pós-operatórios. Esta redução é verificada em doentes sem qualquer patologia sistémica, ou então com

patologias associadas, como a diabetes por exemplo, e também em doentes imunocomprometidos (Dragonas, P, et al., 2019).

Uma das suas grandes vantagens na cirurgia oral, é estimular a coagulação, pelo facto de conter trombospondina e levar a um melhor encerramento dos bordos da lesão. Também diminui o risco de osteonecrose e por isso pode ser utilizado em doentes que foram medicados com bifosfonatos e que estejam a fazer terapia anticoagulante, contactando sempre o médico assistente do doente (Revathy, N. S., et al, 2018).

No caso de extrações de terceiros molares, o L-PRF reduz quase dez vezes a probabilidade de infeção por osteomielite quando comparado com a cicatrização natural. A sua utilização tem um efeito positivo na angiogénese, imunidade e cicatrização das feridas, isto deve-se ao facto de ter presente também um grande número de leucócitos e macrófagos. Estes leucócitos e macrófagos são responsáveis por atuar no combate às infeções e também por libertar fatores de crescimento responsáveis pelo auxílio tecidual e ósseo (Al-Hamed, F. S.et al., 2017).

Na figura 12, podemos observar as diferentes formas de L-PRF que podem ser utilizadas em procedimentos cirúrgicos e as diferenças das percentagens dos componentes sanguíneos (Castro et al., 2019).

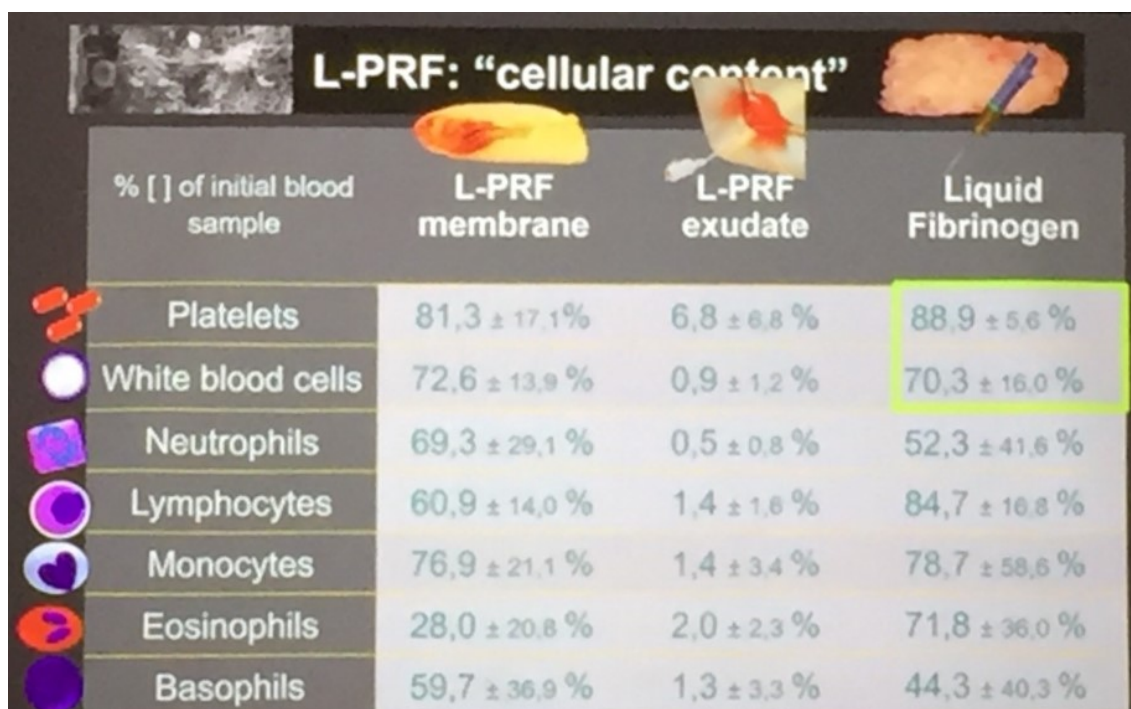


Figura 12- Diferença de percentagem encontrada sobre componentes do L-PRF, consoante a sua apresentação/forma de utilização. (Adaptado de *Castro et al, 2019*).

Em relação à sua utilização em cirurgias de elevação de seio maxilar, (alguns exemplos encontram-se nas figuras 13 e 14) apesar de existirem poucos estudos comparativos, nos artigos encontrados, as variáveis não estavam bem definidas. Alguns estudos mostraram que o facto da membrana aumentar a coesão entre os materiais de enxerto, agindo como uma cola fisiológica, melhorava substancialmente a união entre os tecidos da ferida e ajudava na compactação do material colocado para proteger a membrana de *schneider* (Castro, A. B., et al, 2017).

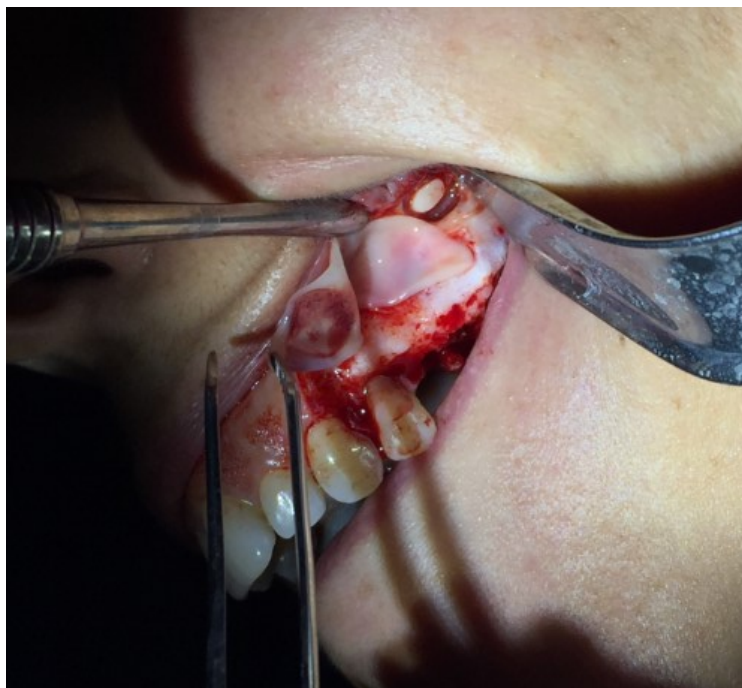


Figura 13- Utilização de membrana de L-PRF na cirurgia de elevação de seio maxilar.



Figura 14- Utilização de Membranas de L-PRF como proteção do local intervencionado.

O exsudado proveniente da preparação das membranas de L-PRF após a compressão dos coágulos de fibrina pode também ser utilizado na irrigação e limpeza do alvéolo, ajudando também a promover a sua cicatrização (Etulain, J. 2018).

Deve ser criado um envelope entre a mucosa e o osso com cerca de 2-3 mm de dimensão em que os *plugs* (L-PRF compactado de forma a parecer uma tampa) de L-PRF vão ser introduzidos com a parte abundante em leucócitos e plaquetas virada para o osso. Em cada membrana que se coloca devem ser feitos movimentos de compressão e o soro resultante dessa compressão deve ser absorvido com uma compressa para não interferir na compactação do *plug* (Marenzi, G., et al, 2015) Após serem colocados todos os *plugs* de L-PRF, a cavidade alveolar deverá ser coberta com uma camada dupla de membranas de L-PRF. Estas membranas devem ser introduzidas entre o perióstio e o retalho, sempre com a parte mais rica em leucócitos e plaquetas virada para o osso, selando assim o alvéolo e impedindo que os tecidos moles á sua volta invadam o alvéolo (Marenzi, G., et al, 2015).

Existe um motivo para ser colocada especificamente a parte da membrana rica em leucócitos e plaquetas voltada para o osso. A maioria das células originárias do sangue recolhido estão presentes numa camada intermédia que se localiza entre a camada de eritrócitos e o coágulo de fibrina que é apelidada de *macroscopic buffy coat* (figura 15). Dada a diferença de células existente entre as duas extremidades das membranas, a sua utilização varia e não se pode esperar clinicamente a mesma ação (Dohan, Ehrenfest, et al., 2010).

Para concluir este processo de preservação do rebordo alveolar ósseo, é feita a sutura com o objetivo de manter as membranas e os *plugs* de L-PRF no local pretendido não tracionando os tecidos e levando ao encerramento primário da lesão (Marenzi, G., et al, 2015).

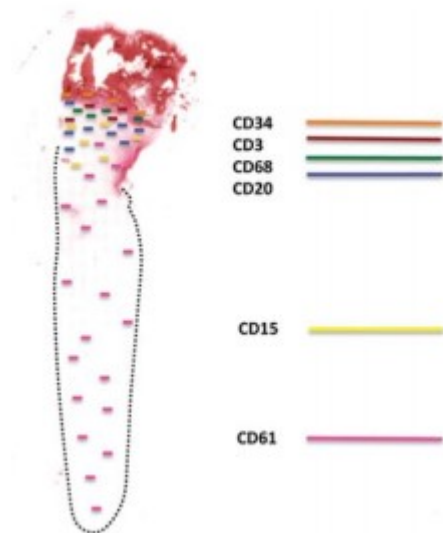


Figura 15- Imagem com aumento de 100x, corada com eosina e hematoxilina, correspondendo a parte superior ao coágulo de L-PRF/eritrócitos onde se pode verificar a presença de plaquetas (CD61) coradas a rosa, os neutrófilos (CD15) corados a amarelo, linfócitos T (CD3) corados a vermelho, linfócitos B (CD20) corados a azul, células estaminais (CD34) coradas a laranja e monócitos (CD68) corados a verde. . (adaptado de Gahanati 2014).

6.2. Periodontologia

No caso da Periodontologia, o L-PRF é mais utilizado na correção de defeitos ósseos, recessões gengivais (figura 16) e regeneração óssea guiada (ROG) (Araújo, M. G.et al., 2015).

As recessões gengivais caracterizam-se pela perda do epitélio. Existe exposição da superfície da raiz do dente e consequente migração da margem gengival para apical em relação à junção amelo-cimentária (JAC). As recessões podem estar presentes apenas numa localização ou várias e podem ter como causa, acumulação de placa bacteriana, trauma de escovagem, doença periodontal, condições anatómicas entre outras (Araújo, M. G.et al., 2015). No caso das recessões gengivais, os estudos realizados mostraram que a membrana de L-PRF não melhorou o recobrimento feito a nível radicular e não ajudou na inserção clínica do tratamento de recessões gengivais Classe I e II de Miller (Araújo, M. G.et al., 2015).

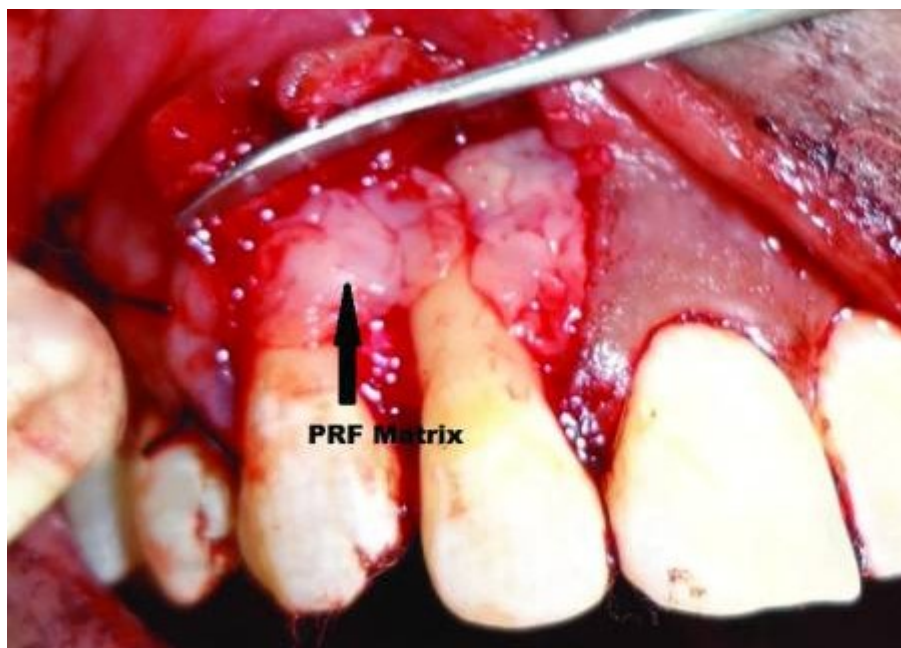


Figura 16- Utilização de L-PRF no tratamento de recessões gengivais. (Adaptado de *Anhorupa P. et al, 2014*)

Não existiram diferenças significativas em estudos, nem estatisticamente nem clinicamente, na utilização do tratamento com retalho coronal avançado comparativamente com a utilização de L-PRF e por isso, neste tipo de procedimento são necessários mais estudos, para se conseguir chegar a uma conclusão mais segura (Araújo, M. G. et al., 2015).

Em relação à utilização do L-PRF na periodontologia, esta utilização é mais direcionada pela necessidade de existir um local de recolha de tecido, ou seja, um segundo local cirúrgico, normalmente acompanhado por queixas do doente. A ação do L-PRF que estimula a angiogénese e a síntese da matriz vai reduzir o edema, dor e desconforto pós-operatório sentidos (Araújo, M. G. et al., 2015). Através da utilização de L-PRF na correção de defeitos intra-ósseos periodontais já existe uma verificação de melhorias clínicas e estatísticas de redução de profundidade de bolsas, comparativamente ao desbridamento de retalho aberto por si só (Lindhe, J., et al 2012).

Concluimos com estes estudos que a utilização de L-PRF auxilia no reparo periodontal e aumenta a eficácia dos tratamentos, quando associado a membranas de colagénio (Castro, A. B et al., 2017).

Em cavidades largas e em lesões onde a cicatrização primária é mais difícil, a utilização de L-PRF pode funcionar como membrana protetora, promover a proteção dos tecidos mais profundos, acelerar a fusão das margens da lesão e consequentemente auxiliar na sutura pela sua elasticidade (Castro, A. B et al., 2017).

6.3. Endodontia regenerativa

Associados à cirurgia apical, os tratamentos endodônticos regenerativos apresentam uma boa alternativa para doentes que apresentem dentes com apex imaturo e lesões apicais invasivas (Farina, R., & Trombelli, L. 2011). A abordagem tradicional em relação ao tratamento de dentes que apresentam necrose segue-se com a apexificação, que se obtém através ou de hidróxido de cálcio (HC) ou mais recentemente Agregato Trióxido Mineral (MTA). No entanto, o encerramento do ápex é bastante imprevisível, havendo sempre a possibilidade de fratura radicular após exposição prolongada ao HC (Farina, R., & Trombelli, L. 2011).

No caso do MTA, essa desvantagem não faz parte dos seus estudos, ainda assim, é um material que contém vestígios tóxicos, extremamente caro e de difícil manuseamento. (Farina, R., & Trombelli, L. 2011).

Introduziu-se então o uso de L-PRF na endodontia regenerativa, uma vez que, já tinham sido estudadas as suas aplicações nas outras áreas da medicina dentária e sabendo da sua capacidade de libertar maiores quantidade de fatores de crescimento e promover a angiogénese (Farina, R., & Trombelli, L. 2011).

Dentes que foram intervencionados com L-PRF conseguiram um melhor encerramento apical, espessamento das paredes compostas por dentina e alongamento das raízes comparativamente ao grupo controlo (Pinto et al., 2017). Foi analisado o uso de L-PRF no tratamento de perfurações e simultaneamente nas suas lesões apicais e os resultados foram positivos mostrando que esta utilização é uma alternativa viável vs as abordagens tradicionais (Pinto et al., 2017).

A combinação de MTA com a membrana de L-PRF nos casos de apexificação, também mostrou ser uma boa opção na criação de uma barreira a nível apical. Induz a cicatrização apical e no caso de lesões extensas apicais mostrou também ser uma boa opção. Atua a nível de recuperação da lesão e como membrana impede a extrusão do material colocado (Kawase, T.2015).

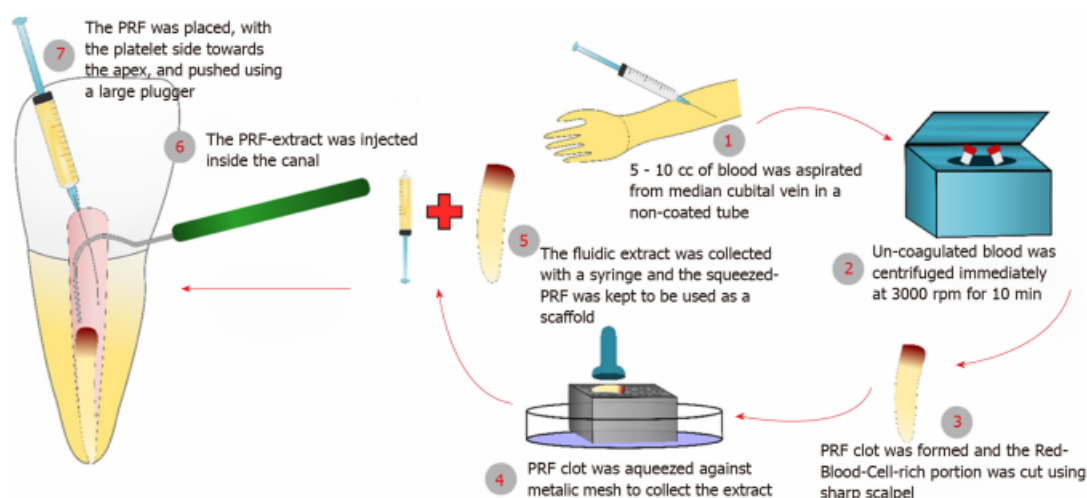


Figura 17- Preparação de L-PRF para utilização em endodontia regenerativa (Adaptado de *Ahmed, R. et al., 2019*).

Na necrose de dentes com ápex imaturo, a revascularização vai induzir um sangramento intencional na zona periapical, forma-se um coágulo sanguíneo no canal radicular, atua como um co-adjuvante na angiogênese e provoca a regeneração tanto a nível pulpar como a nível radicular (Farina, R., & Trombelli, L. 2011). O sangramento é habitualmente diminuído com o uso de hidróxido de cálcio ou com anestesia utilizando um anestésico que vá atuar a nível da vasoconstrição. Após a formação do coágulo ainda existe a hipótese de necrose dos eritrócitos afetando assim a constituição da matriz. Por isso, a utilização de L-PRF rico em plaquetas poderá ser extremamente positiva nesta situação, carecendo ainda de mais estudos em relação a este comportamento (Kawase, T. 2015).

III. CONCLUSÃO

Após a análise dos variados estudos chegou-se à conclusão que utilização de L-PRF ajuda na aceleração da cicatrização de tecidos moles e duros. Causa positivamente uma diminuição da dor pós-operatória e pode melhorar o controlo do edema. No entanto, o protocolo de colheita e obtenção do L-PRF faz com que os resultados obtidos/desejados sejam bastante divergentes.

Para existir um maior aproveitamento da membrana é necessário seguir um protocolo padronizado e correto existindo ainda uma grande diversidade de protocolos. Esta divergência nos protocolos não garante a qualidade final das membranas e por isso, atualmente o protocolo de recolha de L-PRF de Choukroun et al, é o mais aceite. Este protocolo foi alvo de vários estudos por parte da comunidade científica, sendo o que apresenta um melhor resultado tanto a nível estatístico como clínico sendo por isso considerado o *gold standard* dos protocolos de obtenção de L-PRF e, como tal, até ao momento é aconselhada a sua utilização.

O L-PRF, pode ser utilizado em várias áreas da medicina dentária onde a libertação dos fatores de crescimento tais como, o TGF e VEGF, de citosinas, interleucinas, leucócitos, IGF, e BMP's, atribuem ao L-PRF várias características que vão influenciar positivamente o estado dos tecidos, sistema imunitário, remodelação e modelação óssea.

Dentes que foram intervencionados com L-PRF, imaturos e com apex aberto, conseguiram um melhor encerramento apical, espessamento das paredes compostas por dentina e alongamento de raízes.

O estado em que se apresenta o L-PRF, seja em membranas, *plugs*, ou com o exsudado obtido pela compressão das membranas, faz variar a percentagem dos componentes presentes e por isso deve ser tido em conta qual a forma de apresentação que mais se adequa ao procedimento que se irá realizar.

Em termos cicatriciais o L-PRF acelera a cicatrização das feridas através da presença das plaquetas. Estas plaquetas atuam também na coagulação e são responsáveis por produzir PDGF, TGF-B, EGF e fatores muito semelhantes à insulina, fundamentais na ativação de neutrófilos e mais tarde, macrófagos, células endoteliais e fibroblastos. Tem também um papel importante na angiogênese e neovascularização, permitindo assim um maior controle da dor e edema pós-operatório.

No caso concreto da cicatrização de alvéolos dentários pós extração, atua não só como um material de preenchimento ajudando na prevenção da reabsorção óssea, mas também, auxilia ao não colapso da crista marginal, o que muitas vezes acontece durante uma exodontia mais complicada.

Em suma, os estudos que foram feitos na utilização de L-PRF comparativamente a outros concentrados plaquetários como PRP mostraram a diferença, não só na libertação de fatores de crescimento ser mais prolongada no caso do L-PRF mas também na influência sobre o sistema imunitário e consequente ajuda na cicatrização, em que o L-PRF se distinguiu positivamente.

IV. BIBLIOGRAFIA

A Zumstein, M., Berger, S., Schober, M., Boileau, P., W Nyffeler, R., Horn, M., & A Dahinden, C. (2012). Leukocyte-and platelet-rich fibrin (L-PRF) for long-term delivery of growth factor in rotator cuff repair: review, preliminary results and future directions. *Current pharmaceutical biotechnology*, 13(7), 1196-1206.

Al-Hamed, F. S., Tawfik, M. A. M., Abdelfadil, E., & Al-Saleh, M. A. (2017). Efficacy of platelet-rich fibrin after mandibular third molar extraction: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 75(6), 1124-1135.

Amler, M. H. (1969). The time sequence of tissue regeneration in human extraction wounds. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 27(3), 309-318.

Amler, M. H. (1999). Disturbed healing of extraction wounds. *Journal of Oral Implantology*, 25(3), 179-184.

Amler, M. H., Johnson, P. L., & Salman, I. (1960). Histological and histochemical investigation of human alveolar socket healing in undisturbed extraction wounds. *The journal of the american dental association*, 61(1), 32-44.

Amler, M. H., Salman, I., & Bungener, H. (1964). Reticular and collagen fiber characteristics in human bone healing. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 17(6), 785-796.

Araújo, M. G., Silva, C. O., Misawa, M., & Sukekava, F. (2015). Alveolar socket healing: what can we learn?. *Periodontology 2000*, 68(1), 122-134.

Barrientos, S., Stojadinovic, O., Golinko, M. S., Brem, H., & Tomic-Canic, M. (2008). Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound repair and regeneration*, 16(5), 585-601.

Bielecki, T., & M Dohan Ehrenfest, D. (2012). Editorials [Hot Topic: Leukocyte- and Platelet-Rich Plasma/Fibrin in Medicine-Past, Present, Future (Guest Editors: Tomasz Bielecki and David M. Dohan Ehrenfest)]. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 13(7), i-ii.

Bielecki, T., M Dohan Ehrenfest, D., A Everts, P., & Wiczowski, A. (2012). The role of leukocytes from L-PRP/L-PRF in wound healing and immune defense: new perspectives. *Current pharmaceutical biotechnology*, 13(7), 1153-1162.

Bonnefoy A, Daenens K, Feys HB, De Vos R, Vandervoort P, Vermeylen J, et al. Thrombospondin-1 controls vascular platelet recruitment and thrombus adherence in mice by protecting (sub)endothelial VWF from cleavage by ADAMTS13. *Blood*. 2006;107(3):955-64.

Boyne, P. J. (1966). Osseous repair of the postextraction alveolus in man. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*, 21(6), 805-813.

Castro, A. B., Meschi, N., Temmerman, A., Pinto, N., Lambrechts, P., Teughels, W., & Quirynen, M. (2017). Regenerative potential of leucocyte-and platelet-rich fibrin. Part B: sinus floor elevation, alveolar ridge preservation and implant therapy. A systematic review. *Journal of clinical periodontology*, 44(2), 225-234.

Choukroun, J., Adda, F., Schoeffler, C., & Vervelle, A. P. R. F. (2001). Une opportunité en paro-implantologie: le PRF. *Implantodontie*, 42(55), e62.

Choukroun, J., Diss, A., Simonpieri, A., Girard, M. O., Schoeffler, C., Dohan, S. L., ... & Dohan, D. M. (2006). Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 101(3), e56-e60.

Dar, M. M., Shah, A. A., Najjar, A. L., Younis, M., Kapoor, M., & Dar, J. I. (2018). Healing potential of platelet rich fibrin in impacted mandibular third molar extraction sockets. *Annals of maxillofacial surgery*, 8(2), 206.

Davis, V. L., Abukabda, A. B., Radio, N. M., Witt-Enderby, P. A., Clafshenkel, W. P., Cairone, J. V., & Rutkowski, J. L. (2014). Platelet-rich preparations to improve healing. Part I: workable options for every size practice. *Journal of Oral Implantology*, 40(4), 500-510.

Del Corso, M., & Dohan Ehrenfest, D. M. (2013). Immediate implantation and peri-implant Natural Bone Regeneration (NBR) in the severely resorbed posterior mandible using Leukocyte-and Platelet-Rich Fibrin (L-PRF): a 4-year follow-up. *Poseido*, 1(2), 109-16.

Del Fabbro, M., Bortolin, M., & Taschieri, S. (2011). Is autologous platelet concentrate beneficial for post-extraction socket healing? A systematic review. *International journal of oral and maxillofacial surgery*, 40(9), 891-900.

Dimitriou, R., Tsiridis, E., & Giannoudis, P. V. (2005). Current concepts of molecular aspects of bone healing. *Injury*, 36(12), 1392-1404.

Dohan, D. M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S. L., Dohan, A. J., Mouhyi, J., & Gogly, B. (2006). Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 101(3), e37-e44.

Dohan, D. M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S. L., Dohan, A. J., Mouhyi, J., & Gogly, B. (2006). Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates?. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 101(3), e51-e55.

Dohan Ehrenfest, D. M., Pinto, N. R., Pereda, A., Jiménez, P., Corso, M. D., Kang, B. S., ... & Quirynen, M. (2018). The impact of the centrifuge characteristics and centrifugation protocols on the cells, growth factors, and fibrin architecture of a leukocyte-and platelet-rich fibrin (L-PRF) clot and membrane. *Platelets*, 29(2), 171-184.

Dohan Ehrenfest, D. M., de Peppo, G. M., Doglioli, P., & Sammartino, G. (2009). Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): a gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies. *Growth factors*, 27(1), 63-69.

Dragonas, P., Katsaros, T., Avila-Ortiz, G., Chambrone, L., Schiavo, J. H., & Palaiologou, A. (2019). Effects of leukocyte–platelet-rich fibrin (L-PRF) in different intraoral bone grafting procedures: a systematic review. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 48(2), 250-262.

Ehrenfest, D. M. D., Andia, I., Zumstein, M. A., Zhang, C. Q., Pinto, N. R., & Bielecki, T. (2014). Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives. *Muscles, ligaments and tendons journal*, 4(1), 3.

Ehrenfest, D. M. D., Rasmusson, L., & Albrektsson, T. (2009). Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte-and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends in biotechnology*, 27(3), 158-167.

Evian, C. I., Rosenberg, E. S., Coslet, J. G., & Corn, H. (1982). The osteogenic activity of bone removed from healing extraction sockets in humans. *Journal of Periodontology*, 53(2), 81-85.

Etulain, J. (2018). Platelets in wound healing and regenerative medicine. *Platelets*, 29(6), 556-568.

Farina, R., & Trombelli, L. (2011). Wound healing of extraction sockets. *Endodontic Topics*, 25(1), 16-43.

Gülşen, U., & Şentürk, M. F. (2017). Effect of platelet rich fibrin on edema and pain following third molar surgery: a split mouth control study. *BMC Oral Health*, 17(1), 79.

Hansson, S., & Halldin, A. (2012). Alveolar ridge resorption after tooth extraction: A consequence of a fundamental principle of bone physiology. *Journal of dental biomechanics*, 3.

He, Y., Chen, J., Huang, Y., Pan, Q., & Nie, M. (2017). Local application of platelet-rich fibrin during lower third molar extraction improves treatment outcomes. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 75(12), 2497-2506.

Hsieh, Y. D., Devlin, H., & Roberts, C. (1994). Early alveolar ridge osteogenesis following tooth extraction in the rat. *Archives of oral biology*, 39(5), 425-428.

Jeyaraj, P. E., & Chakranarayan, A. (2018). Soft tissue healing and bony regeneration of impacted mandibular third molar extraction sockets, following postoperative incorporation of platelet-rich fibrin. *Annals of maxillofacial surgery*, 8(1), 10.

Kanyama, M., Kuboki, T., Akiyama, K., Nawachi, K., Miyauchi, F. M., Yatani, H., ... & Takigawa, M. (2003). Connective tissue growth factor expressed in rat alveolar bone regeneration sites after tooth extraction. *Archives of oral biology*, 48(10), 723-730.

Kawase, T. (2015). Platelet-rich plasma and its derivatives as promising bioactive materials for regenerative medicine: basic principles and concepts underlying recent advances. *Odontology*, 103(2), 126-135.

Kobayashi, Y., Hashimoto, F., & Ishibashi, K. (2016). Time-dependent changes of collagen crosslinks in the socket after tooth extraction in rabbits. *Journal of Dental Research*, 67(6), 944-948.

Leoni, G., Neumann, P. A., Sumagin, R., Denning, T. L., & Nusrat, A. (2015). Wound repair: role of immune–epithelial interactions. *Mucosal immunology*, 8(5), 959-968.

Li, J., Chen, J., & Kirsner, R. (2007). Pathophysiology of acute wound healing. *Clinics in dermatology*, 25(1), 9-18.

Lin, W. L., McCulloch, C. A., & Cho, M. I. (1994). Differentiation of periodontal ligament fibroblasts into osteoblasts during socket healing after tooth extraction in the rat. *The Anatomical Record*, 240(4), 492-506.

Lindhe, J., Cecchinato, D., Bressan, E. A., Toia, M., Araújo, M. G., & Liljenberg, B. (2012). The alveolar process of the edentulous maxilla in periodontitis and non-periodontitis subjects. *Clinical oral implants research*, 23(1), 5-11.

M Dohan Ehrenfest, D., Bielecki, T., Jimbo, R., Barbe, G., Del Corso, M., Inchingolo, F., & Sammartino, G. (2012). Do the fibrin architecture and leukocyte content influence the growth factor release of platelet concentrates? An evidence-based answer comparing a pure platelet-rich plasma (P-PRP) gel and a leukocyte-and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Current pharmaceutical biotechnology*, 13(7), 1145-1152.

Marenzi, G., Riccitiello, F., Tia, M., di Lauro, A., & Sammartino, G. (2015). Influence of leukocyte-and platelet-rich fibrin (L-PRF) in the healing of simple postextraction sockets: a split-mouth study. *BioMed research international*, 2015.

Martin, P., & Nunan, R. (2015). Cellular and molecular mechanisms of repair in acute and chronic wound healing. *British Journal of Dermatology*, 173(2), 370-378.

Marx, R. E., Carlson, E. R., Eichstaedt, R. M., Schimmele, S. R., Strauss, J. E., & Georgeff, K. R. (1998). Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 85(6), 638-646.

McGrath, C., Comfort, M. B., Lo, E. C., & Luo, Y. (2003). Patient-centred outcome measures in oral surgery: validity and sensitivity. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 41(1), 43-47.

Mourão, C. F. D. A. B., de Mello-Machado, R. C., Javid, K., & Moraschini, V. (2020). The use of leukocyte-and platelet-rich fibrin in the management of soft tissue healing and pain in post-extraction sockets: a randomized clinical trial. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*.

Revathy, N. S., Kannan, R., Karthik, R. S., Kumar, M. S., Munshi, M. A. I., & Vijay, R. (2018). Comparative study on alveolar bone healing in postextraction socket versus healing aided with autologous platelet-rich fibrin following surgical removal of bilateral mandibular impacted third molar tooth: A radiographic evaluation. *National journal of maxillofacial surgery*, 9(2), 140.

Sato, H., & Takeda, Y. (2007). Proliferative activity, apoptosis, and histogenesis in the early stages of rat tooth extraction wound healing. *Cells Tissues Organs*, 186(2), 104-111.

Shah, R., Triveni, M. G., Thomas, R., & Mehta, D. S. (2017). An update on the protocols and biologic actions of platelet rich fibrin in dentistry. *The European journal of prosthodontics and restorative dentistry*, 25(2), 64-72.

Simonpieri, A., Del Corso, M., Sammartino, G., & Ehrenfest, D. M. D. (2009). The relevance of Choukroun's platelet-rich fibrin and metronidazole during complex maxillary rehabilitations using bone allograft. Part I: a new grafting protocol. *Implant dentistry*, 18(2), 102-111.

Smith, N. (1974). A comparative histological and radiographic study of extraction socket healing in the rat. *Australian dental journal*, 19(4), 250-254.

Temmerman, A., Vandessel, J., Castro, A., Jacobs, R., Teughels, W., Pinto, N., & Quirynen, M. (2016). The use of leucocyte and platelet-rich fibrin in socket management and ridge preservation: a split-mouth, randomized, controlled clinical trial. *Journal of clinical periodontology*, 43(11), 990-999.

Trombelli, L., Farina, R., Marzola, A., Bozzi, L., Liljenberg, B., & Lindhe, J. (2008). Modeling and remodeling of human extraction sockets. *Journal of clinical periodontology*, 35(7), 630-639.

Tsiridis, E., Upadhyay, N., & Giannoudis, P. (2007). Molecular aspects of fracture healing: which are the important molecules *Injury*, 38(1), S11-S25.

Ucuzian, A. A., Gassman, A. A., East, A. T., & Greisler, H. P. (2010). Molecular mediators of angiogenesis. *Journal of Burn Care & Research*, 31(1), 158-175.

Yaprak, E., Kasap, M., Akpınar, G., Islek, E. E., & Sinanoglu, A. (2018). Abundant proteins in platelet-rich fibrin and their potential contribution to wound healing: An explorative proteomics study and review of the literature. *Journal of dental sciences*, 13(4), 386-395.